

氏 名	久 保 尚 士		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	第 4780 号		
学位授与年月日	平成 17 年 12 月 26 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当者		
学 位 論 文 名	Frequent microsatellite instability in primary esophageal carcinoma associated with extraesophageal primary carcinoma (食道重複癌はマイクロサテライト不安定性を高頻度に認める)		
論文審査委員	主 査 教 授 平 川 弘 聖	副 査 教 授 荒 川 哲 男	
	副 査 教 授 山 根 英 雄		

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】DNA ミスマッチ修復酵素 (MMR) の異常によるマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability: MSI) は、散発性の胃癌や大腸癌の発癌機構の一つと考えられている。MMR 遺伝子群の一つである *hMLH1* の異常は、そのプロモーター領域のメチル化による不活性化機構が原因であると報告されている。胃や大腸の重複癌は MSI を高頻度に認められることが報告されているが、食道重複癌における MSI はほとんど検討されていない。今回、食道重複癌における MSI および MMR 異常を検討した。

【対象】食道重複癌 34 例を対象とした。3 重複癌が 6 例、2 重複癌が 28 例であった。重複臓器は胃 21 例、頭頸部 6 例、大腸 6 例、甲状腺 2 例、腎盂膀胱 2 例、肺 2 例、胆管 1 例であった。単発食道癌 42 例を対照とした。

【方法】食道癌部、非癌部の組織をマイクロダイセクション法にてパラフィン包埋切片より採取し、DNA を抽出した。5 種類のマイクロサテライトマーカー (*D5S346*, *D2S123*, *D17S250*, *BAT25*, *BAT26*) を使用し MSI を検討した。band shift が 2 つ以上を MSI-high (MSI-H)、band shift が 1 つを MSI-low (MSI-L)、band shift が 0 を microsatellite stable (MSS) とした。*hMLH1* のプロモーター領域のメチル化は、癌部 DNA を bisulfite 処理し COBRA 法により検討した。*hMLH1*、*hMSH2* の免疫組織染色を avidin-biotin-peroxidase complex method にて行った。

【結果】MSI-H は、重複癌の 44.1% (15/34 例) に認められ、非重複癌 (14.3%; 6/42 例) に比し、有意 ($p < 0.01$) に高頻度であった。MSI-L は重複癌の 29.4% (10/34 例) に認められた。免疫組織学的検討では MSI-H を示す重複癌 15 例中 7 例は *hMLH1* 染色陰性で 5 例は *hMSH2* 染色陰性であった。そして *hMLH1* 染色陰性を示した 7 例中 5 例に *hMLH1* プロモーター領域のメチル化を認めた。

【結論】食道重複癌の発癌機構には、MSI が関与し、その原因の一つとして *hMLH1* のプロモーター領域のメチル化が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

食道癌は、約 20% に同時性または異時性の他臓器癌を重複すると報告されており、他の悪性腫瘍に比し重複癌が高頻度である。しかし、その原因についての分子生物学的検討は、ほとんどなされていない。胃大腸重複癌は、ミスマッチ修復 (MMR) 遺伝子の異常によるマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability; MSI) が関与していると報告されている。本論文は、食道重複癌症例の MMR 異常および MSI を検討し、食道重複癌の発癌機序を解析したものである。

食道重複癌 34 例を対象とし、1) 食道癌部、非癌部の組織からマイクロダイセクション法にて DNA を抽出し、

5 種類のマイクロサテライトマーカーにて MSI を検討した。2) MMR 蛋白である hMLH1、hMSH2 の免疫組織染色を ABC 法にて行った。3) *hMLH1* のプロモーター領域メチル化を COBRA 法にて解析した。単発食道癌 42 例を対照とした。

その結果、1) MSI-high は、重複癌の 34 例中 15 例 (44.1%) に認められ、単発癌 42 例中 6 例 (14.3%) に比し、有意に高頻度であった。2) 免疫組織学的検討では MSI-high を示す重複癌 15 例中 7 例は hMLH1 染色陰性で、5 例は hMSH2 染色陰性であった。3) hMLH1 染色陰性を示した 7 例中 5 例に *hMLH1* プロモーター領域のメチル化を認めた。以上の結果から、食道重複癌の発癌機構には、MSI が関与し、その原因として hMLH1、hMSH2 の機能異常が考えられた。また hMLH1 の機能異常の原因としてプロモーター領域のメチル化が示唆された。

本論文は食道重複癌の発癌機構について分子生物学的な観点から検討しており、食道重複癌の発癌機構の解明に寄与するものと考えられる。従って本研究は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定された。